8

Dott. MARIO CILOTTI
Aiuto
Istituto di Anatomia Patologica della R. Università di Pisa
Direttore: Prof. A. Cesaris Demel

Influenza del magnesio addizionato alla alimentazione sullo sviluppo di un sarcoma magnifusocellulare del ratto albino

Questa nota apparve nel N. 479 di "PATHOLOGICA" del 15 Settembre 1931

GENOVA
Soc. An. E. OLIVERI & C. — Tipo - Litografica Ligure
Via Caffaro, N. 8
1931

INFLUENZA DEL MAGNESIO ADDIZIONATO ALLA ALIMENTAZIONE SULLO SVILUPPO DI UN SARCOMA MAGNIFUSOCELLULARE DEL RATTO ALBINO

Dott. MARIO CILOTTI - Aiuto

Istituto di Anatomia Patologica della R. Università di Pisa

Direttore: Prof. A. Cesaris Demel

Lo studio dei rapporti fra alimentazione e sviluppo di tumori fu iniziato nel 1909 dal *Moreschi* che si occupò principalmente degli effetti della diminuzione quantitativa degli alimenti sulla crescita di un sarcoma del topino, dimostrando come l'inanizione determini solo un rallentamento nello sviluppo del tessuto neoplastico, riuscendo in certo qual modo favorevole all'ospite, specialmente se iniziata precedentemente all'innesto.

Da allora ulteriori ricerche in questo senso sono state eseguite da numerosi autori e con ceppi diversi di tumori ed i risultati che se ne sono ottenuti costituiscono, almeno in gran parte, una conferma di quanto ebbe a mettere in evidenza il *Moreschi* (*Sugiura* e *Benedist, Rous, Drummond, G.* e *A. Vecchi, Guastalla, ecc.*).

A questo gruppo di ricerche, che hanno considerato il problema solo in rapporto alla diminuzione globale quantitativa degli alimenti, si sono aggiunte le indagini eseguite con la somministrazione di diete private, od artificialmente arricchite, di qualche particolare costituente, specialmente vitamine (*Funk, Fraenkel* e *Fürn, Benedict* e *Rake, Centanni, Cramer, Stanley Wyar, Solimano, Bürrows,* ecc.), colesterina (*Roffo, Löwenthal, Rosemberg* e *Leffkowitz*), idrati di carbonio (*Rondoni, Handel* e *Tademura, Pentimalli*), lipoidi (*Börst, Rondoni, Morelli, Cirio, Roussy*), ecc.

Dall'insieme di questi studî si è potuto osservare come alcune diete facilitino lo sviluppo del tessuto neoplastico, altre invece, in grado maggiore o minore, ne determinino un più lento accrescimento; si sarebbe anche giunti a provocare una vera insorgenza di tumori nei ratti tenuti a carenza di vitamina A (*Saiki* e *Fujinami*) o sottoposti ad un regime di iperalimentazione globale unita ad un eccesso di vitamina B (*Rhoda Erdmann* e *Haagen*); ma siamo ancora ben lungi dal trarre da queste acquisizioni, per alcuni lati certamente importanti, dei criteri pratici di ordine terapeutico in rapporto ai tumori maligni.

Recentemente *Delbet,* occupandosi delle cause che potrebbero spiegare l'aumento dei tumori maligni, esprime l'opinione che uno dei principali fattori sia rappresentato dalla carenza di magnesio conseguente specialmente al maggior raffinamento di alcuni alimenti (sale, pane, prodotti agricoli). Non è da ora che il chirurgo francese si occupa del magnesio di cui ha messo in evidenza la favorevole azione sulla fagocitosi (1915) sostenendo inoltre, in collaborazione con *Palios,* che il suo impiego aumenta la resistenza delle cavie sottoposte a regime scorbutigeno (1928). Negli ultimi tempi poi, egli sarebbe venuto alla conclusione, in seguito a numerose constatazioni personali, che il magnesio, e più precisamente il cloruro di magnesio, usato per os e per un certo periodo di tempo, mostrerebbe una spiccata azione terapeutica sulle verruche, papillomi, ispessimenti cutanei dei vecchi, processi infiammatori cronici delle mammelle, etc. E considerando tali lesioni come altrettanti stati precancerosi, il *Delbet* ritiene il magnesio, in ultima analisi, come elemento capace di esplicare un'azione preventiva sui tumori maligni.

In collaborazione con *Godard* e *Palios,* l'A. ha sperimentalmente studiato l'azione dei sali alogeni di magnesio — in prevalenza cloruro, somministrato per via gastrica e per iniezioni — sullo sviluppo di quattro cancri e di un sarcoma

trapiantabili del topino. Egli avrebbe osservato che il tumore innestato viene ritardato nel suo sviluppo nei topini sottoposti al trattamento col magnesio, più o meno, ma in modo sempre molto evidente che in certi casi arriva fino alla regressione, a seconda dei varî stipiti di tumore. L'ulteriore trapianto di tumori da topi magnesati in una seconda e terza serie di topi pure magnesati, accentuerebbe le differenze della energia proliferativa degli innesti nei confronti dei controlli e per alcuni stipiti di tumori, condurrebbe alla perdita del carattere di trapiantabilità, carattere che si manterrebbe invece inalterato negli animali delle serie di controllo. I grafici che l'Autore riporta nelle sue comunicazioni, sarebbero a questo riguardo realmente suggestive.

Egli ha esteso le sue ricerche al cancro da catrame nel topino bianco e nel coniglio con resultati però molto relativi: infatti dai primi non ha potuto trarre conclusione alcuna essendo morti precocemente gli animali, nei secondi la ricerca è stata condotta su un numero così irrisorio di animali - 3 - da non potersi prendere in considerazione i risultati che *Delbet* espone come favorevoli. Con maggiore larghezza il *Delbet* e i suoi collaboratori hanno condotto ricerche sottoponendo le cavie al trattamento di *Kazama* mediante l'introduzione di sassolini nella cistifellea: le lesioni ottenute furono sempre e di gran lunga più imponenti nei 12 animali controllo, in 2 dei quali l'esame istologico avrebbe dimostrato l'avvenuta produzione di cancro, che non nelle cavie sottoposte al trattamento con magnesio, le quali presentarono lesioni che l'A. dice insignificanti. A conclusione delle sue diverse comunicazioni il *Delbet* ripete categoricamente l'affermazione che l'uso regolare, quasi fosse un alimento, dei sali alogeni di magnesio, è capace di impedire l'insorgenza di un notevole numero di tumori maligni; in altre parole l'aumento del contenuto in magnesio degli alimenti, diminuirebbe il numero dei cancerosi.

In questa convinzione lo rinforzano alcuni dati geografici dai quali resulterebbe che la frequenza del cancro è inversamente proporzionale al contenuto in magnesio dei terreni e delle acque e specialmente dimostrativi sarebbero i dati ricavati dall'osservazione fatta dai medici del territorio di *Gafsa*, ove le acque sono fortemente magnesiache sì da poter essere bevute dagli indigeni ma non dagli europei; essi non hanno mai osservato il cancro nei Berberi e negli Arabi, mentre non mancano ripetute osservazioni di tumori maligni nei bianchi, di gran lunga meno numerosi degli indigeni.

Kotzareff, De Morsier e *Morin* hanno controllato per primi le affermazioni di *Delbet* in merito all'azione del magnesio sui tumori da innesto esperimentando con un carcinoma del topino e somministrando il sale per via orale. Essi avrebbero osservato che fin dalla terza serie di animali i tumori innestati raggiungevano dimensioni costantemente minori nei topi magnesati che nei topi controllo, e che in questi la necrosi intratumorale è in general meno manifesta. La somministrazione di cloruro di magnesio non ha dimostrato agli Autori una influenza apprezzabile sulla sopravvivenza dei topi magnesati. Iniziando invece il trattamento in topi controllo portatori di tumori al ventesimo giorno dall'innesto, si arriverebbe ad aumentarne alcun poco la sopravvivenza.

Marullaz in tre conigli pretrattati con $Mg\,Cl_2$ ha iniziato una serie di pennellature settimanali di catrame con il risultato che solo in un animale si ottennero piccole formazioni papillomatose mentre negli altri due non si ebbero apprezzabili modificazioni. Tali esperienze l'A. ritiene importanti in quanto il trattamento fatto, egli dice, è noto che determina nei conigli normali tumori benigni o maligni nel 95 % dei casi.

Marchi ha condotto uno studio sulla quantità di cloruro di magnesio introdotta dai singoli abitanti col sale da cucina e sul numero dei morti per carcinomi varii in quelle provincie italiane dove sono situate le saline statali. Da questa indagine statistica è risultata una chiara correlazione fra quantità di cloruro di magnesio introdotto col sale da cucina e la diffusione dei cancri: dove maggiore è la prima, minore è la seconda, con un massimo di mortalità media annuale per cancro di 96,77 su 1000 morti, in provincia di Ravenna dove il contenuto di $Mg\,Cl_2$ nel sale da cucina (salina di Cervia) è 0, e con un minimo di mortalità media per cancro di 14 su 1000 morti in provincia di Cagliari, dove il contenuto di $Mg\,Cl_2$ nel sale da cucina (salina di Cagliari) è 0,25 %.

Il *Marchi* ritiene che pur non volendo interpretare questa correlazione come un rapporto di causa ad effetto, la carenza di cloruro di magnesio potrebbe tuttavia essere considerata come capace di provocare nel terreno organico una particolare disposizione ad una più facile insorgenza della neoplasia.

Robinet porta alla questione un ulteriore contributo statistico prendendo in considerazione per le sue ricerche solo i Comuni con meno di 5000 abitanti come quelli nei quali l'uomo, consumando acqua del sottosuolo e alimenti di produzione locale, viene più facilmente a subire la influenza delle caratteristiche dei terreni della regione. Studiando con questi intendimenti il rapporto fra mortalità media per cancro e contenuto in magnesio dei terreni delle diverse regioni della Francia, ha potuto dimostrare che dei 25 dipartimenti nei quali il cancro è raro, 24 hanno un alto contenuto in magnesio; nei 24 dipartimenti invece

che offrono maggiore mortalità per tumori maligni, 23 sono privi di magnesio. Estendendo le sue ricerche alle regioni dell' Alsazia - Lorena, le conclusioni apparirebbero riconfermate: avrebbe infatti osservato il *Robinet* che le zone in cui il magnesio è scarso offrono una mortalità per tumori maligni quasi doppia (Basso Reno e Alto Reno: mortalità per cancro rispettivamente 9,6 e 9,2 su 10000 abitanti) di quelle ove si trovano grandi quantità di materiali magnesiaci (Mosella: mortalità per cancro 4,9 su 10000 abitanti).

Geirsvold occupandosi dell' importanza dei sali di magnesio nei confronti dei tumori maligni ritiene che per ora non si possa parlare di un vero effetto terapeutico del magnesio sulla cellula cancerosa, per quanto tuttavia non sia senz' altro da scartare l' ipotesi che esso possa spiegare una certa influenza protettrice agendo specialmente nello stadio pre-canceroso.

Bolaffi A. usando il ceppo di *Ehrlich* dell' adeno-carcinoma del topino ha osservato che la somministrazione di $Mg\ Cl_2$ per iniezioni o per os, iniziata qualche giorno dopo l' innesto, pareva offrire una lieve ed incostante riduzione della crescita del tumore, mentre se il trattamento veniva iniziato antecedentemente all' innesto l' accrescimento del tessuto neoplastico. pareva piuttosto favorito. Le indagini chimiche condotte sul tessuto del tumore ed intese a ricercare eventuali modificazioni e del contenuto in magnesio e del rapporto K/Ca, non fecero rilevare alcuno spostamento del contenuto in magnesio della massa neoplastica e solo in alcune esperienze le quali, si noti, non coincidono con quelle in cui fu osservata una qualche influenza inibitrice sulla crescita, ha dimostrato una diminuzione del rapporto K/Ca specialmente per aumento di Ca nella massa tumorale.

Ulteriori ricerche della *Bolaffi* sull' influenza di altri sali del magnesio (ioduro e fosfato) hanno condotto l' A. a resultati tali da negare all' ione Mg una qualsiasi azione inibente sullo sviluppo dell' adeno-carcinoma del topino tipo *Ehlrich.*

* * *

I risultati, così diversi fra loro, ottenuti dagli AA. sopracitati e l' interesse che offre un simile argomento mi hanno spinto a studiare l' influenza che poteva esercitare il cloruro di magnesio addizionato all' alimentazione sullo sviluppo di un sarcoma trapiantabile del ratto albino (sarcoma Galliera).

Tale sarcoma, che fu ampliamente studiato nelle sue caratteristiche da *Solimano* (1), appartiene al gruppo dei magnifusocellulari e innestato sotto cute con la tecnica della poltiglia dà un attecchimento costante del 100 % nei ratti giovani provenienti dall' allevamento dei laboratori Galliera portando a morte l' animale dopo aver raggiunto dimensioni in alcuni casi veramente cospicue; mentre invece offre una percentuale di attecchimento di gran lunga inferiore se innestato in ratti provenienti da stipiti diversi.

Ho scelto per le mie esperienze il sarcoma Galliera perchè esso, per il suo sviluppo espansivo verso l' esterno, può più facilmente essere seguito nel suo successivo accrescersi fino dallo inizio del suo attecchimento; non solo, ma avendo i precedenti sperimentatori prevalentemente usato ceppi di tumori epiteliali, se si eccettua una sola serie di *Delbet* che usò il sarcoma del topino con risultati molto dimostrativi, mi è sembrato non privo di interesse il controllo di questi risultati.

Tecnica ed animali da esperimento. — Come materiale di trapianto mi sono servito, per tutti indistintamente i lotti di animali, di tumori giovani prelevati, con le più scrupolose norme di asepsi, da ratti di pura razza Galliera e ciò perchè i risultati finali non fossero alterati per i fenomeni di adattamento che intervengono con l' innesto di tessuto neoplastico in stipiti affini di animali.

Il tessuto neoplastico, dopo essermi accertato che non presentava zone di necrosi, usavo passare attraverso una fitta retina di metallo fino ad ottenerne una densa poltiglia che diluivo a metà con liquido di *Ringer,* analogamente a quanto ha praticato *Solimano*: e di questa sospensione iniettavo sotto cute ad ogni ratto nella regione della coscia sinistra esattamente 0,50 cc. Ho ritenuto senza altro preferibile la tecnica della poltiglia perchè essa naturalmente offre maggiori garanzie di iniettare ad ogni ratto la stesso quantità di materiale: con l' impiego di frammenti invece riesce impossibile innestare ad ogni animale quantità identiche di tessuto neoplastico il che costituisce un inconveniente che non può trascurarsi in ricerche di tal genere essendo noto che la rapidità di sviluppo ha spesso rapporto con la dose iniettata.

Una volta eseguita l' iniezione di pappa di tumore ciascun animale, distinto da particolari segni di riconoscimento, veniva seguito con osservazioni giornaliere fintantochè la presenza di un piccolo nodulino miliariforme, rilevabile alla palpazione della regione dell' innesto, non ci testimoniava l' avvenuto attecchimento: da questo momento i rilievi sulla crescita del tumore venivano fatti di dieci in dieci giorni.

Per l' apprezzamento dei risultati delle mie esperienze ha creduto di tenere speciale conto, oltre ad altri dati che verranno esposti nei singoli gruppi, del periodo di latenza intendendo con questo lo spazio di tempo intercorrente fra il giorno dell' innesto e il giorno nel quale si ebbe

(1) SOLIMANO G. - *Studi di sistematica oncologica.* Nota I, II, III, IV, V, VI, VII. - Pathologica 1924, 1925, 1926, 1927.

la prova dell'avvenuto attecchimento, dei giorni di sopravvivenza degli animali e del peso del tumore all'epoca del decesso dei ratti.

Ben conoscendo come la diversa età degli animali — analogamente a quanto si verifica in patologia umana — notevolmente influenzi lo sviluppo dei tumori che sogliono tanto più presto e più rapidamente accrescersi quanto più giovane è l'organismo dell'ospite, ho scrupolosamente curato, perchè i risultati fossero il più possibile attendibili, che tutti gli animali di uno stesso lotto e del relativo lotto controllo avessero la stessa età al momento dell'innesto con differenze massime non superiori a cinque giorni: preferendo questo sicuro dato al criterio del peso che non corrisponde mai, almeno nel ratto, con sufficiente esattezza.

I due primi gruppi di esperienze, eseguiti con animali provenienti dallo stesso allevamento nel quale comparve spontaneamente anni addietro il tumore, ho creduto opportuno completare con altre ricerche usando per queste ratti albini dello allevamento che abbiamo nel nostro Istituto, i quali hanno costantemente dimostrato, nei confronti di innesti di sarcoma Galliera, se non una vera e propria refrattarietà, come talora è stato osservato per altri tumori, per lo meno una notevole minore recettività.

L'alimentazione è stata assolutamente identica per i diversi lotti di animali consistendo in pane, pasta cotta, semola, verdura e avanzi di carne: ma mentre ai ratti controllo veniva data acqua comune, che contiene magnesio (considerato sotto forma di ossido) nella quantità di 0,0137 °/₀₀, ai ratti trattati si somministrava una soluzione di cloruro di magnesio purissimo al 12,10 °/₀₀.

La somministrazione del magnesio è stata iniziata sempre prima dell'innesto e continuata fino alla morte degli animali e questo per attuare le condizioni più favorevoli perchè il sale potesse manifestare gli eventuali suoi effetti dato che *Delbet* sostiene che l'azione del magnesio oltrechè curativa è, e sopratutto, profilattica.

Ho creduto opportuno preferire la somministrazione per os alla via sottocutanea come quella meno artificiosa e più vicina alla realtà delle cose se è vero che è specialmente la carenza di magnesio alimentare quella capace di spiegare l'aumento numerico dei tumori maligni (*Delbet*).

ESPERIMENTI PERSONALI

Gruppo I. - Per questo gruppo di esperimenti ho fatto uso di 24 ratti dello stipite che offre una percentuale di attecchimento del tumore del 100 %.

Dodici di essi vennero tenuti come controlli, agli altri dodici invece, all'età di 30 giorni, fu iniziata la somministrazione della soluzione di magnesio. All'età di due mesi — il giorno 30 agosto 1930 — ai due lotti di animali fu fatto l'innesto del tumore con la tecnica soprariferita prelevando il materiale da due ratti nei quali il tumore aveva raggiunto il volume di una piccola noce.

Fra il 22 e il 28 settembre si constatò che l'innesto aveva avuto esito positivo in tutti indistintamente i 24 animali senza che tale attecchimento si fosse dimostrato anche di poco più precoce in un lotto piuttosto che nell'altro. Lo sviluppo della massa neoplastica proseguì nei primi tempi normalmente in tutti i ratti senza che fosse possibile cogliere una qualche apprezzabile differenza fra i due lotti; molti (14) degli animali però di questo primo gruppo vennero a morte precocemente con le note anatomo-patologiche di una bronco-polmonite emorragica che decimò notevolmente anche i ratti dell'allevamento, di modo che non fu possibile compiere su di essi osservazioni più precise di quelle che permetteva il semplice apprezzamento macroscopico della massa neoplastica sottocutanea perchè, appena morti, venivano rapidamente mangiati dai sopravvissuti: ad ogni modo dalle misure del tumore prese di dieci giorni in dieci giorni, si può escludere vi fossero rilevabili diversità di sviluppo fra controlli e trattati.

Malgrado questa grave e precoce mortalità pur tuttavia anche da questo gruppo si può trarre qualche utile dato perchè dei dieci animali sopravvissuti, e morti in prosieguo di tempo in conseguenza del tumore, cinque appartenevano al gruppo dei controlli e cinque al lotto di quelli trattati col magnesio. Nella tabella I sono riportati i dati che si riferiscono a questi animali. Da essi risulta che la sopravvivenza per i cinque ratti trattati è stata complessivamente inferiore di 13 giorni a quella dei controlli; che in questi il peso raggiunto dai tumori ha dato una cifra media di gr. 65,4 per ogni animale, cifra che confrontata con quella che si riferisce ai ratti trattati (grammi 75,2) non starebbe certo a dimostrare, contrariamente a quanto potevasi presumere, un'azione inibente del $Mg\ Cl_2$ sullo sviluppo del sarcoma; ed un altro dato, citato da *Kotzareff, De Morsier* e *Morin* come dovuto all'azione del magnesio, cioè i differenti gradi di lesioni necrotiche intratumorali, è assolutamente mancato nei miei esperimenti, in questo come nei gruppi successivi. Dai risultati complessivi quindi di questo gruppo di esperienze non ho tratto elementi che permettano di confermare le asserzioni di *Delbet*.

Gruppo II. - Il trattamento con magnesio nel gruppo precedente è stato iniziato un mese prima dell'innesto: poteva tale periodo essere troppo breve, e quindi insufficiente perchè il $Mg\ Cl_2$ facesse risentire la sua asserita azione inibitrice? o, per meglio dire, un più lungo pretrattamento

TABELLA I.

TRATTATI CON $Mg. Cl_2$				RATTO NUMERO	CONTROLLI			
Giorni di sopravvivenza	Peso dell' animale in gr. Prima dell' innesto	Peso dell' animale in gr. Al decesso	Peso del tumore gr.		Giorni di sopravvivenza	Peso dell' animale in gr. Prima dell' innesto	Peso dell' animale in gr. Al decesso	Peso del tumore gr.
72	55	65	76	1	81	53	45	65
83	53	72	76	2	89	65	65	80
64	49	77	94	3	78	45	58	72
74	68	60	48	4	60	56	67	45
76	56	52	82	5	74	55	55	65
369 giorni	gr. 281	gr. 326	gr. 376	Valori totali per i 5 ratti	382 giorni	gr. 274	gr. 280	gr 327
Sopravvivenza media: giorni 73, 8			Peso medio dei tumori: gr. 75,2		Sopravvivenza media: giorni 76, 4			Peso medio dei tumori: gr. 65,4

non sarebbe stato forse capace di portare a risultati più evidenti? Con questo secondo gruppo di esperienze io ho appunto voluto convincermi di ciò. Usando anche in questa volta ratti di razza Gallierà (attecchimento 100 %) ho scelte quattro femmine che si mostravano press' a poco in ugual periodo iniziale di gravidanza e mentre due di esse ricevevano nel beverello la soluzione di magnesio, le altre due ho tenute come controllo somministrando loro acqua comune. Fra il giorno 2 e il 6 maggio 1930 nacquero 13 rattini dalle madri controllo e 14 dalle madri trattate: di questi ultimi all' età di un mese ne sopravvivevano 9 che furono a lor volta isolati continuando il trattamento che non era mai stato interrotto: e 9 rattini nati da madri normali furono prescelti come controlli.

Il giorno 4 luglio 1930 con la solita tecnica furono innestati i 18 animali; nel breve periodo di quattro giorni, fra il 28 luglio e il 1 agosto si constatò l' avvenuto attecchimento del tumore in tutti i 18 ratti per la presenza di piccoli nodulini appena percettibili alla palpazione. L' osservazione praticata nei successivi 20 giorni non permise di cogliere qualche notevole differenza nell' accrescimento della massa neoplastica nei due gruppi di animali. Il 20 agosto uno dei ratti del gruppo magnesato fu trovato morto e semi mangiato: il tumore era però intatto. Furono allora uccisi tutti gli animali (trattati e controlli) e si provvide a pesare i rispettivi tumori.

Nella tabella II. sono riportate appunto tali cifre le quali danno una media ponderale del tumore di gr. 6,27 per la serie dei ratti trattati e di gr. 5,87 per quella dei controlli.

Tali risultati integrano quelli ottenuti nel primo gruppo e dimostrano che il trattamento con il cloruro di magnesio, anche se prolungato, non ha alcuna azione inibitrice sullo sviluppo del sarcoma Galliera in ratti di razza altamente recettiva: anzi parrebbe, tenendo conto delle cifre medie del peso delle masse neoplastiche asportate al loro ventesimo giorno di sviluppo, che potesse se mai favorirne alcun poco l' accrescimento.

TABELLA II.

Ratto . . . N.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Peso medio dei tumori
Trattati con $Mg. Cl_2$	7, 65	6, 10	8, 10	3, 70	3, 35	7, 28	5, 81	8, 26	4, —	gr 6,27
Controlli . . .	6, —	5, 60	6, 85	3, 60	6, 45	4, 25	9, 31	5, 44	5, 38	gr. 5, 87

Come già ho accennato in principio ho creduto di completare le ricerche suddette con altre condotte su animali provenienti da un altro ceppo e che hanno mostrato di essere dotati di una certa naturale resistenza nei confronti del sarcoma Galliera offrendo una percentuale di attecchimento molto minore di quella dei ratti originari.

Il fatto non può sorprendere poichè vi sono in letteratura molti esempi di una simile refrattarietà che potremmo chiamare familiare: tale ad esempio quello riferito da *Michaelis* per un tumore tipo Jensen del ratto che dava normalmente nei ratti danesi una percentuale di attecchimento del 60 - 80 %, e che innestato a ratti tedeschi dava invece risultati completamente negativi. Così pure *Milone* riferisce che un sarcoma fusicellulare dà una percentuale elevatissima di innesti positivi in una determinata razza di ratti albini senza mai essere riusciti a trapiantarlo in ratti di un altro allevamento, anche sottoponendo questi a vari trattamenti sperimentali come, ad esempio, l' alimentazione quantitativamente insufficiente (*G.* e *A. Vecchi*). Per altri tumori invece si veri-

fica il fatto che la resistenza naturale all' innesto non è così assoluta ma si limita solo a dare percentuali di attecchimento molto minori come appunto è il caso, verso il sarcoma Galliera, della razza allevata nel nostro Istituto.

Profittando di queste condizioni io ho cercato di vedere se era possibile dimostrare per questa via una qualche influenza del magnesio: se il Mg Cl_2 avesse realmente un' azione ritardatrice o inibitrice sui tumori era logico attendersi che esso avrebbe aumentata la naturale resistenza offerta dagli animali del nostro allevamento. Con tale intendimento 24 ratti di questo stipite (*gruppo* 3) nati fra il 13 e il 17 febbraio 1930 vennero trattati esattamente come gli animali del I. gruppo. Il 15 aprile 1930 fu loro fatto l' innesto con la solita tecnica con materiale prelevato a ratti di razza recettiva. Tra il 7 e il 10 maggio si constatò l' avvenuto attecchimento del tumore in 3 dei 12 ratti trattati e in 4 del gruppo dei controlli: ma mentre nei primi il tumore regredì rapidamente (vedi Tabella III.) negli altri esso

TABELLA III.

15 - IV - 1930 Innesto con 0,50 c.c. di pappa di tumore	10-V.	20-V.	30-V.	10-VI.
Ratto N. 1	●	●	regredito	
Ratto N. 2	●	●	●	regredito
Ratto N. 3	●	●	●	regredito

continuò a svilupparsi portando a morte gli animali dopo avere raggiunto notevoli dimensioni (vedi Tabella IV.).

TABELLA IV.

Ratto N.	Giorni di sopravvivenza	Peso dell' animale in gr.		Peso del tumore gr.
		Prima dell' innesto	Al decesso	
1	60	35	35	25
2	72	35	43	45
3	71	38	35	37
4	55	40	36	37

Si potrebbe dunque pensare, considerando isolatamente i risultati di questo gruppo, che effettivamente non si potesse negare al magnesio un certo potere antineoplastico che si esplicherebbe esaltando la relativa naturale resistenza all' innesto del sarcoma posseduta da questo stipite di ratti usati; ma prima di addivenire ad una conclusione definitiva in questo senso io ho voluto ripetere le esperienze sembrandomi indispensabile un controllo che mi permettesse di escludere ogni fattore casuale tanto più che, per personale esperienza, ho constatato più volte che il sarcoma Galliera in ratti del nostro allevamento, indipendentemente da ogni trattamento speciale, oltre ad offrire percentuali di attecchimento diverse spesso andava incontro in alcuni soggetti ad una rapida regressione. Tali considerazioni giustificano le esperienze eseguite nel:

Gruppo IV. - Ventiquattro ratti del nostro allevamento nati fra il 28 novembre e il 5 dicembre 1930 vengono trattati esattamente come gli animali del gruppo precedente. Il 5 febbraio essi furono innestati con 0,50 cc. di poltiglia di tumore e soluzione di Ringer a a parti uguali. L' attecchimento del neoplasma si ebbe in 2 ratti del lotto controllo e in 6 del lotto alimentato con magnesio. Il periodo di latenza medio fu di giorni 35 per i primi e di giorni 35,8 per i secondi. La successiva crescita del tumore fu proporzionalmente pressochè uguale negli animali dei due gruppi con lieve prevalenza per gli animali di controllo; la sopravvivenza media leggermente inferiore nei ratti magnesati (1).

(1) Una osservazione potrebbe esser fatta per quanto riguarda la diversità di sopravvivenza degli animali nei due lotti di controlli rispettivamente del gruppo 3 e del gruppo 4: potrebbe infatti sorprendere che mentre nel gruppo 3 la media è stata di giorni 64,5 nel gruppo 4 è stata quasi del doppio (giorni 114). Ma a questo proposito credo opportuno riferire che già da Solimano era stato costantemente osservato che ad un maggior periodo di latenza corrispondeva un maggior periodo di sopravvivenza: a tale carattere, proprio e costante del ceppo di tumore usato, devono essere dunque riferite le differenze che anche io ho notate.

I dati complessivi dei due lotti sono riportati nelle tabelle V. e VI. Da essi si ricavano elementi per togliere ogni valore ai risultati del gruppo precedente: potrebbe anzi dirsi che questi sono andati oltre una semplice inversione anche per quello che riguarda la percentuale di attecchimento (vedi Tabella VII.) e portano nel loro

TABELLA V.

Animali di controllo.

Ratto Numero	Giorni di sopravvivenza	Peso del tumore gr.
1	84	95
2	144	165
Totale. .	228	260
	Sopravvivenza media: giorni 114	Peso medio del tumore: gr. 130

TABELLA VI.

Animali trattati con Mg. Cl_2

Ratto numero	Giorni di sopravvivenza	Peso del tumore gr.
1	93	156
2	86	75
3	135	205
4	85	98
5	147	138
6	103	85
Totale. .	649	757
	Sopravvivenza media: giorni 108, 1	Peso medio del tumore: gr. 126,16

TABELLA VII.

	Percentuale di attecchimento	
	Controlli	Trattati con Mg. Cl_2
Gruppo III	33,3 %	25 %
Gruppo IV	16,6 %	50 %

complesso a negare al magnesio somministrato per via gastrica ogni influenza inbitrice sullo sviluppo del sarcoma Galliera nel ratto albino.

***

I risultati negativi che emergono dal complesso delle mie ricerche possono attribuirsi soltanto al ceppo di tumore usato o acquistano valore più generale? In altri termini, si può pensare che i dati negativi siano spiegabili con una magnesio-resistenza del sarcoma impiegato, dato che *Delbet* pensa che accanto ad un gran numero di tumori magnesio - sensibili esistano anche dei tumori magnesio-resistenti? L'obiezione è naturale e logica e non si può senz'altro categoricamente escludere una simile possibilità, sebbene dall'insieme delle ricerche sperimentali riferite proprio da *Delbet* mi sembri che anche i dati che egli dà come positivi non siano esenti da critiche che vengono a scuotere l'ipotesi di un peculiare e manifesto potere antineoplastico posseduto dal magnesio. Il chirurgo francese ed i suoi collaboratori infatti hanno basato le loro ottimistiche conclusioni sui resultati ottenuti col magnesio: 1) sul cancro da catrame del topino; 2) sul cancro da catrame del coniglio; 3) sulle lesioni così dette cancerose della cistifellea ottenute col procedimento di Kazama; 4) su cinque tumori da innesto.

Per il primo gruppo di ricerche, che sarebbero di gran lunga le più importanti ben sapendo come il catrame nel topino determini l'insorgenza di veri cancri, che possiedono cioè tutti i caratteri fondamentali e propri del tumore maligno (atipia cellulare, accrescimento infiltrativo ed illimitato, proprietà di recidivare e di dare metastasi), *Delbet* si limita a dire di avere avuto una tale mortalità e così precoce degli animali da non poter concludere in alcun senso: ed è un vero peccato perchè proprio da queste esperienze avrebbero potuto eventualmente emergere gli elementi più convincenti in favore dell'ipotesi da lui sostenuta.

Le esperienze condotte sui conigli colla catramatura dell'orecchio sono in realtà molto esigue: in un primo lotto infatti egli ha trattato solo tre animali, di cui uno magnesato e gli altri due controlli, ottenendo in questi ultimi lesioni papillomatose e carcinomatose che sarebbero mancate nell'animale trattato. Del tutto recentemente poi egli riferisce che di cinque conigli sopravvissuti ad un lungo trattamento con catrame i tre magnesati non hanno mostrato alterazioni neoplastiche, mentre in quelli — due — tenuti come controlli si sarebbe sviluppato un tipico carcinoma.

Io non voglio negare a priori questi risultati ma d'altra parte non posso fare a meno di esprimere seri dubbi sulla natura cancerosa delle manifestazioni cutanee osservate in questi conigli.

Che la catramatura del padiglione auricolare del coniglio possa talora dar luogo alla formazione di cancro non è cosa da dubitarne dopo le ricerche documentate e superiori ad ogni critica *Yamagiwa* e *Itchikawa*, *Itchikawa* e *Baum*, *Roussy*, ecc.; ma contro i risultati positivi ottenuti con una relativa frequenza da questi autori stanno i risultati costantemente negativi di moltissimi altri sperimentatori specialmente italiani, tedeschi e francesi (*Merteus, Leitch, Leroux, Börst, Bizzozero, Ferrero, Larianoff, Ferrari, Polettini*) e quelli di *Halberstädter, Roussy* e *Peyre, Shimoda, Lasnier* che ottennero il cancro solo come evenienza eccezionalissima; dal che si può con sicurezza dedurne che il vero carcinoma da catrame del coniglio è in Europa rarissimo ad ottenersi, quando non si vogliano considerare come cancri tutte quelle lesioni strettamente benigne e suscettibili di spontanea regressione che, come ha dimostrato *Polettini*, molti ricercatori hanno erroneamente e diversamente interpretate

(*Kotzareff, Simoës-Raposo, Babes* e *Sermanesco*, ecc.).

Così stando le cose mi pare che le esperienze di *Delbet* sul coniglio perdano molto del valore attribuito loro dall' autore; infatti riesce difficile credere, data la rarità con la quale si sviluppa il vero cancro da catrame in questi animali, che almeno in tre su quattro dei conigli controllo catramati si sia avuto lo sviluppo di un vero tumore piuttosto che di un carcinoide. Tali considerazioni sono altrettanto giustificate nei riguardi delle esperienze di *Marullaz* le quali difficilmente potrebbero essere prese in seria considerazione: egli infatti si è limitato a trattare col magnesio solo tre animali senza nemmeno istituire dei controlli; avendo osservato, in seguito a questo trattamento, la comparsa di piccole formazioni papillomatose in un solo coniglio e nessuna modificazione negli altri, si è convinto del potere antineoplastico del magnesio dato che il trattamento fatto suole determinare in conigli normali tumori benigni o maligni nel 95 % dei casi (!!).

Con uguale scetticismo debbono considerarsi i risultati delle esperienze condotte nelle cavie col procedimento di *Kazama* mediante l' introduzione di corpi estranei nella cistifellea: in questo gruppo di ricerche *Delbet* avrebbe ottenuto lesioni insignificanti negli animali trattati con cloruro di magnesio, lesioni imponenti invece nei controlli in due dei quali, dice l' autore, si potè constatare la comparsa di un cancro. Orbene anche per le lesioni che si istituiscono nella cistifellea in seguito all' introduzione di corpi estrnaei diversi nella sua cavità (sassolini, frammenti di calcoli umani, addizionati o meno con catrame ecc.) i pareri degli A.A. sono ben lungi dall' essere concordi e per esse si potrebbero ripetere tutte le osservazioni fatte a proposito delle lesioni da catrame nel coniglio. Se *Kazama, Leitch, Delbet* e *Clemente* affermano di avere ottenuto veri tumori maligni, d' altra parte una più numerosa schiera di osservatori, e fra questi *Creyghton, Polettini, Gioia, Petroff* e *Krotkina*, lo nega in modo altrettanto deciso. Anche il *Cannata*, con ricerche recentemente eseguite in questo Istituto su numerosi lotti di cavie alle quali introduceva nella coleciste corpi estranei soli o solo catrame o gli uni e l' altro contemporaneamente, ha ottenuto proliferazioni della mucosa che in diversi animali assumevano netto aspetto adenomatoso, ma mai alcuna lesione che possedesse sicuri caratteri istologici e clinici di malignità.

Un altro autore del quale è nota la particolare competenza in oncologia, il *Maisin*, occupandosi dei tumori sperimentali li ha classificati in cancri fisiologici e cancri istologici comprendendo nei primi i veri cancri che possiedono non solo i caratteri istologici di atipia ma hanno altresì sviluppo illimitato, mancano quindi del carattere di regressione spontanea, e sono suscettibili di recidivare e dare metastasi, mentre nei secondi (e fra questi comprende e specifica proprio i reperti ottenuti da *Kazama, Leitch* e *Delbet* nella cistifellea delle cavie) pur avendosi le note istologiche di atipicità, difettano tutti gli altri caratteri di malignità.

Tali sono indubbiamente i due reperti ottenuti nelle cavie controllo che *Delbet* diagnostica come carcinomi se egli stesso in ultimo sente il bisogno di dichiarare che « in presenza di lesioni di questa natura, trovate in una biopsia, nessun istologo esiterebbe ad invitare il chirurgo a comportarsi come se si trattasse di un cancro ».

L' insieme di queste ricerche non mi pare possa minimamente legittimare l'affermazione che i sali di magnesio, e specialmente il cloruro, svolgano un' influenza anticancerosa se le lesioni ottenute negli animali di controllo non possono in alcun modo essere considerate come veri tumori maligni.

Rimarrebbero così da prendere in considerazione i notevoli risultati che avrebbero ottenuti *Delbet* ed i suoi collaboratori sui diversi tumori da innesto e quelli, più modesti, che sono riferiti da *Kotzareff, De Morsier* e *Morin*: il controllo di questi risultati, che è stato lo scopo del presente lavoro, mi porta necessariamente a conclusioni del tutto contrarie a quelle ottenute da *Delbet*, nè reputo necessario ulteriormente soffermarsi sulle mie esperienze. Solo è opportuno notare che a conclusioni identiche alle mie è pervenuta la *Bolaffi* che ha esperimentato sull' adenocarcinoma del topino; il che permette di escludere possa la negatività dei miei reperti esclusivamente dipendere dal ceppo di tumore usato: e questo tanto più quando si pensi che su tutti i tumori da innesto adoperati da *Delbet* il magnesio avrebbe dimostrato, sia pure in grado diverso, una manifesta e costante azione inibitrice.

Possiamo dunque affermare che il magnesio addizionato all' alimentazione e somministrato precedentemente all' innesto non ha dimostrato alcuna influenza inibitrice sull' attecchimento e sullo sviluppo di un sarcoma del ratto albino in uno stipite di animali altamente recettivo, nè ha aumentato la naturale relativa resistenza all' innesto posseduta da un diverso stipite di ratti.

BIBLIOGRAFIA

1. BOLAFFI *A.* - *Tumori*, 1930.
2. CANNATA. - *Atti Soc. Toscana Sc. Naturali* (in corso di pubblicazione).
3. CLEMENTE. - *Arch. Ital. di Chirurgia*, Vol. XVII.
4. DELBET. - *Bulletin Acad. de Med.*, 1928.

5. Delbet e Palios. - *Bulletin Assoc. Franç. pour l' étude du Cancer*, 1928.
6. Delbet, Godard et Palios. - *Bulletin Acad.* de Med., 1928.
7. Delbet. - *Bulletin Assoc. franç. pour l'étude du cancer*, 1931.
8. Geirsvold. - *Ref. in Zeitschr. für Krebsforschung*, 1930.
9. Gioia. - *Archivio Istit. Biochimico*, 1929.
10. Kotzareff, De Morsier et Morin. - *Bull. Acad. de Méd.*, 1929.
11. Leitch. - *Brit. Medical Journal*, 1929.
12. Maisin. - *Revue Belge Sc. Medic.*, 1930.
13. Marchi. - *Riforma Medica*, 1930.
14. Marullaz. - *Bulletin Acad. de Méd.*, 1929.
15. Moreschi. - *Zeitschr. f. Immun. u. exper. Ther*, 1909.
16. Polettini. - *Pathologica*, 1923.
17. Id. - *Atti della Soc. di Sc. Med. e Nat.* — Cagliari, 1929.
18. Robinet. - *Ref. in Index analiticus cancerologiae*, 1930.
19. Vecchi G. e A.. - *Archivio Sc. Mediche*, 1929.

RIASSUNTO

L' A. ha istituito numerose ricerche con lo scopo di studiare l' influenza dei sali di magnesio addizionati alla alimentazione sullo sviluppo di un sarcoma trapiantabile nel ratto albino: in base ai suoi risultati e ad una critica dei lavori esistenti sull' argomento egli perviene alla conclusione che il magnesio è assolutamente privo di ogni potere antineoplastico.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Einfluss des Magnesiums, der Nahrung beigemischt, auf die Entwicklung des Sarkoms in der Ratte.

Der Verfasser machte zahlreiche Experimente um den Einfluss von Magnesiumsalz, der Nahrung beigemischt, auf die Entwicklung eines ueber pflanzbaren Sarkoms in der Ratte zu studieren. Auf Grund seiner Erfolge und der diesbezueglichen existierenden Arbeiten ist er der Mainung dass das Magnesium jeder antineoplastichen Wirkung entbehrt.

SUMMARY

Influence of Magnesium, additioned to food, for the growth of a large spindle-cell sarcoma in rats.

The Autor executed many experimental researches for purpose to study the influence of magnesium salts, additioned to food, in order to promove the growth of a transplantable sarcoma in rats. On basis of his results and in consideration of the respective literature he concludes that the magnesium is absolutely free of any antineoplastic power.

PATHOLOGICA

RIVISTA MENSILE

Fondatore MARIO SEGALE

Direttore A. CESARIS DEMEL

Conto corrente con la Posta

N. 479 — 15 Settembre 1931 - IX — Anno XXIII

LAVORI ORIGINALI

RIASSUNTI DI RECENTI PUBBLICAZIONI

Abbonamento annuo: Italia L. 50 - Europa: Shillings 28, chèque su London - Oltremare: $ 6, chèque su New York — Direzione, Redazione ed Amministrazione: Via Alessandro Volta, N. 6, - Genova — Telefono N. 53.902 — Casella Postale N. 884 — Per la pubblicità rivolgersi: R. Lavagetto, Genova - Palazzo Nuova Borsa, N. 44 — Telefono N. 52.932 — Printed in Italy.